

东北梅花鹿的染色体组型 C分带和G分带

俞秀璋 胡振东

(中国农业科学院特产研究所)

东北梅花鹿 (*Cervus nippon hortulorum*) 是一种药用和观赏动物。其鹿茸是名贵的药材, 长期以来被列为“东北三宝”(人参、貂皮、鹿茸)之一, 并在国际市场上享有盛名。

为了提高鹿茸产量, 人们除在现有的种群内进行选育提高外, 还利用东北梅花鹿和东北马鹿 (*Cervus canadensis xanthopygus*) 进行种间杂交, 力求从根本上改良现有的种群。

一般认为哺乳动物种间杂交的 F_1 不育或异型配子不育(吴常信1975)。但目前已知东北梅花鹿与东北马鹿杂交, 包括正反交的 F_1 两性都能育。为弄清其遗传实质, 我们开展了对东北梅花鹿、东北马鹿及其 F_1 的染色体组型、C分带和G分带的分析。现将已完成的东北梅花鹿的分析结果报告如下:

材 料 和 方 法

一 材料来源: 供试鹿来自本所鹿场, 共九只, 其中: 公鹿五只(成年公鹿一只、育成公鹿四只), 母鹿四只(成年母鹿二只、育成母鹿二只)。从试验鹿的颈静脉采血。

二 细胞培养及染色体制备: 外周血淋巴细胞培养及染色体制备是参照Hungerford法(1965)略有修改。培养基采用RPMI 1640, 加20%小牛血清。培养温度为39°C。细胞培养终止前2—4小时加入秋水仙素, 使最终浓度为0.08微克/毫升。常规方法制片。

三 染色体的常规分析: 标本片以Giemsa染色后, 观察染色体的数目及形态。参照人类染色体测量和计算的三个参数, 测量了15个细胞的染色体, 分别算出其相对长度、臂比和着丝点指数。据此对染色体进行分组和编号。

四 C分带显色法: 将标本片置于5%氢氧化钡溶液中(52—65°C)处理5—15分

本文1982年10月28日收到。

本文承复旦大学刘祖洞、黄文儿教授、薛京伦、马正群老师指正, 谨致谢意。

钟。取出,用同温的蒸馏水漂洗以除去片子上的白色沉淀。然后置于同温的 $2 \times \text{SSC}$ 溶液中处理1—1.5小时,尔后以蒸馏水冲洗,用Giemsa染色10分钟,流水冲洗,空气干燥。

五 G分带显色法:标本片放在60—70°C烘箱内烘2—4小时,然后置于0.3%胰酶溶液中(38°C)处理3—30秒钟,取出后用Giemsa染色10分钟,流水冲洗,空气干燥。

经过显带处理的标本片,在显微镜下观察,选出染色体分散良好,带型清晰的核型进行显微摄影,根据放大照片及镜下观察结果,对东北梅花鹿染色体的C分带和G分带的特征进行分析,并将G分带带型绘制成模式图。

结果与分析

一 二倍体细胞的染色体数目

经过对九只东北梅花鹿(5♂、4♀)的482个(♂268、♀214)细胞的观察,依表1的结果可以看出:东北梅花鹿的二倍体细胞染色体数以 $2n=66$ 的居多,占观察细胞总数的76.76%; $2n \neq 66$ 的只占23.24%。故,东北梅花鹿的二倍体细胞染色体数应为 $2n=66$ 。其中:雄性有32对常染色体和一对性染色体XY,雌性有32对常染色体和一对性染色体XX。

表1 东北梅花鹿体细胞染色体数观察结果

鹿号	细胞数	53	54	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	71	74	77	80
1号公	47									1		28	14	3			1		
4号公	52					1					6	45							
8号公	49			1						1	2	44	1						
18号公	48								2		2	38	2		2	1			1
大公	72									2	6	62	2						
10号母	54					1		1		4	3	44	1						
33号母	49		2	1	1		3	1		5	1	34	1						
0号母	63	1						3		14	4	38	3						
大梅母	48		1						1	2	2	37	3	1					
合计	482	1	3	2	1	2	3	5	3	29	26	370	27	4	2	1	1	1	1
%		0.21	0.62	0.41	0.21	0.41	0.62	1.04	0.62	6.02	5.39	76.76	5.60	0.83	0.41	0.21	0.21	0.21	0.21

二 染色体组型分析

染色体测量结果列入表2。

按染色体的形态和着丝点的位置,东北梅花鹿的常染色体可分为两类即:中央着丝点染色体和端部着丝点染色体。据此,我们将东北梅花鹿的32对常染色体分成两组。组内的染色体则按相对长度依次顺序排列,并标以1—32的编号。性染色体不编号,分别

表 2

东北梅花鹿染色体测量结果

组 别	染色体编号	相对长度	臂 比	着丝点指数	染色体类型
A	1	48.15±2.28	1.14±0.05	47.32±1.15	m
	2	42.84±1.93	1.11±0.06	47.55±1.37	m
	3	43.43±1.86			t
	4	40.44±1.41			t
	5	39.02±1.54			t
	6	37.58±1.21			t
	7	36.08±0.98			t
	8	35.23±0.72			t
	9	34.38±0.64			t
	10	33.37±0.97			t
	11	32.41±0.61			t
	12	31.55±0.74			t
	13	30.66±0.74			t
	14	29.34±0.67			t
	15	28.36±0.71			t
B	16	27.58±0.62			t
	17	26.95±0.55			t
	18	26.31±0.56			t
	19	25.72±0.64			t
	20	25.28±0.66			t
	21	24.73±0.68			t
	22	24.42±0.90			t
	23	23.71±0.80			t
	24	23.23±0.70			t
	25	22.83±0.69			t
	26	22.49±0.82			t
	27	22.07±0.80			t
	28	21.63±1.02			t
	29	21.03±0.99			t
	30	20.36±0.97			t
	31	19.51±1.05			t
	32	18.50±1.14			t
性染色体	X	51.43±4.30			t
	Y	13.09±2.04	1.70	37.00	spm
相对长度 = $\frac{\text{每条染色体的长度}}{\text{基因组长度}} \times 1000 \pm S.D$		染色体类型: 着丝点指数			
着丝点指数 = $\frac{\text{短臂长度}}{\text{染色体长度}} \times 100 \pm S.D$		50.0—37.5 m 具中央着丝点			
臂 比 = $\frac{\text{长 臂}}{\text{短 臂}}$		37.5—25.0 sm 具亚中央着丝点			
		25.0—12.5 st 具亚端部着丝点			
		12.5—0 t 具端部着丝点			

以X和Y表示。(见图1、2)。兹将各组染色体的特征简述如下:

A组:由第1号和2号二对中央着丝点染色体组成。第1号染色体是常染色体中最大的一对。第2号染色体比第3号染色体短,却因其具中央着丝点,故仍编入本组。

B组:由第3—32号染色体组成。30对全部都是端部着丝点染色体,故一并列入本组。组中第3号染色体较易识别,它仅小于X染色体及第1号染色体,其相对长度在常染色体中位居第二。从第4号到32号的29对常染色体,尽管外形上长短各不相同,却难以用肉眼准确判定各对染色体的排列位置。但第21号染色体着丝点上方有时能看到随体,第3号染色体臂端外可常见一浅染随体类似物(均见图1箭头指处)。

性染色体:雄性为XY,雌性为XX。X是核型中最长的具端部着丝点染色体,Y则是最短小的具亚中央着丝点染色体。

三 C分带分析

由图3、4表明,东北梅花鹿的66条染色体在着丝点部位均有一C带染色区。A组的第1、2号染色体着丝点部位为近乎相等大而颇小的浅染区。B组的30对染色体在每一对的着丝点区均有一大小不等而又较大的深染区。

X染色体与B组的30对常染色体相似,在着丝点部位亦有较大的深染区。Y染色体的着丝点部位为一较小的浅染区。

四 G分带分析

染色体经过胰酶处理和Giemsa染色后,各条染色体都能显示出其独特的带形。通过观察得知其带型稳定,借助它能把所有的同源染色体准确配对(图5、6)。现将东北梅花鹿染色体的G分带带型特征绘制成模式图(见图7)。

讨 论

1.据Gustavsson等人(1969)的报道,东北梅花鹿(*Cervus nippon hortulorum Swinhoe*)正常染色体数为 $2n=68$,个体间染色体数存在着多态性($2n=68, 67, 66, 65, 64$)。本文结果与Gustavsson等人的报道却不尽相同(见表3)。

表3

	染色体数	常染色体		总臂数		性染色体	
		m	t	♀	♂	X	Y
Gustavsson等	68	2	64	70		最大的t	最小的sm
本 文	66	4	60	70	71	最大的t	最小的sm

我们通过对九只东北梅花鹿482个细胞的观察,确认其 $2n=66$,个体间染色体数不存在多态现象,但在同一个体内细胞染色体数有差异。 $2n=66$ 的细胞占观察细胞总数的76.76%, $2n=68$ 的细胞占23.24%(多余或缺如的一般都是端部着丝点染色体,

由于罗伯逊易位而引起 $2n=66$ 的细胞极少, 只有 4 个)。出现此种现象的原因有两种可能: 一是由于染色体畸变(如减数分裂过程中同源染色体不分离)引起; 二是在染色体标本制备过程中无意地造成染色体随机丢失。

我国的东北梅花鹿主要分布在吉林省。其它省、区饲养的东北梅花鹿也多由吉林省引入。我所饲养的东北梅花鹿来源于吉林省内的东丰、辽源、双阳、伊通、辉南、龙潭山等有代表性的老鹿场。各(场)群体间的个体均可相互交配并能繁殖出正常的后代。所以, 它们具有我国东北梅花鹿种群的代表性。因此, 我们认为: 我国的东北梅花鹿就其细胞遗传学的特性而言, 正常染色体数应为 $2n=66$ 。染色体组型见图 1 及图 2 所示。

一般认为染色体数的多态性, 主要是由于染色体结构重组——着丝点融合或断裂所致。此类现象亦见于其他动物(Capanna 1980 Gustavsson 1968), 如小鼠(*Mus musculus*) 在意大利因所处地域不同, 染色体出现了罗伯逊易位, 从而导致染色体数发生变异。甚至在同一区系内, 因小生境的差异, 也能使各群体具有独特的染色体数。因此, 意大利的小鼠除有 $2n=40$ 的群体外, 也还存在着 $2n=28$ 、26、24、22 等纯合群体。

综上所述, 我们认为我国的东北梅花鹿与 Gustavsson 等人报道的尽管学名相同, 均为 *Cervus nippon hortulorum*, 但由于他们既不清楚供试鹿的来源, 又不知具有不同染色体数的个体间交配后能否繁衍正常的 F_1 , 也未描述供试鹿的外貌特征, 因此, 两者无法进行比较。但就两者的染色体数及核型不同而言, 是由于所处地域及小生境不同, 使染色体发生罗伯逊易位? 还是二者非属同一亚种? 有待进一步探讨, 至少两者非属同一群体。

2. 从 C 分带显色结果可以看出, 东北梅花鹿染色体上异染色质的分布趋势是: 集中在各条染色体的着丝点区。在中央着丝点及亚中央着丝点染色体上(如第 1、2 号染色体及 Y 染色体)分布甚少, 而在端部着丝点染色体上(如第 3—32 号常染色体及 X 染色体)的分布量显得相对集中并丰富得多。在染色体的其它部位似无所见。异染色质的这种分布方式与斑鹿 *Axis axis* (T.C.Hsu 1974) 有所不同, 后者除着丝点部位有异染色质分布外, 在第 1、3、4 号染色体及 Y 染色体的其它部位亦有分布。如 Y 染色体的 C 带染色区, 从着丝点部位一直延伸到染色体臂近心端的四分之一处。此种现象说明了染色体上结构异染色质的分布, 因物种之不同而异, 从而表现出各物种有其独特的 C 带带型。

另外, 从其他偶蹄动物如斑鹿, 黑白花奶牛(马正蓉等 1980), 大额牛(单祥年等 1980) 及家猪(陈文元 1979) 的 C 带看出, Y 染色体的 C 带着色区通常比 X 染色体的大且深染, 说明 Y 染色体上比 X 染色体集中分布着更多的结构异染色质。但东北梅花鹿恰与其相反, X 染色体上 C 带染色区比 Y 染色体的大且深染。这标志着 Y 染色体上结构异染色质含量要比 X 染色体少得多。这种现象除表现出物种的特异性外, 其它的生物学意义尚有待进一步探讨。

3. 东北梅花鹿的染色体经过胰酶处理和 Giemsa 染色后, 每条染色体都能显示出其特有的 G 带带型。在观察这些带型时, 发现不同细胞的某些同源染色体的带纹着色深浅不一, 而且在同一细胞内的同源染色体上的带纹, 有时也存在着深浅不一的现象, 但带型是一致的(图 8 箭头指处)。这可能与显色技术, 操作程序中某一步骤有关。所以, 在鉴别时应以带型特征为主; 而带型着色程度的深浅, 只能作为参考。

此外,我们还观察到染色体G带带纹的宽窄及着色程度的深浅与染色体的长度有关。当第1号染色体的绝对长度为11.89微米时,短臂上出现6条深带,长臂上出现8条深带,而当它的绝对长度为8.27微米时,短臂上出现3条深带,长臂呈现出4条深带。短臂上第1、2条带合并为一条窄深带,而第3、4、5三条带则合并为一条宽深带了。可以看出,当染色体收缩变短时,彼此靠近的带纹合拢到一起,带纹着色程度随之变深。染色体收缩得越短,被合并的带纹就愈多,表现出来的带型就愈宽,着色也越深,但带纹的数目随之愈少。反之,当染色体较长时,带纹就疏展开来,从而显现出较多窄而浅的带纹。所以,我们认为,在描述一个物种的染色体G带带型时,应首先确定其染色体的绝对长度,然后再分析在该长度时所呈现的带型,否则将得不到较一致的结果。通过试验,我们认为东北梅花鹿染色体G带带型,以第1号染色体的绝对长度为9.5—10.5微米左右时,所出现的带型较有代表性,带型也较稳定。过长时,各条染色体臂易于相互缠绕或重叠;过短时,则只能看到为数不多的几条带。

参 考 文 献

- 马正群等 1980 牛染色体的C带、G带,姐妹单体互换的观察 动物学研究 1(3):313—318
- 吴常信 1975 动物的远缘杂交及杂种优势的利用 遗传与育种 1期 32—34
- 陈文元等 1979 家猪 *Sus scrofa domestica* 体细胞染色体的研究 遗传 1(5):6—10
- 单祥年等 1980 大犏牛 (*Bos frontalis*) 的核型分析 遗传 2(5):25—27
- David, A. Hungerford 1955 Leukocytes Cultured From Small Inocula of Whole Blood and The Preparation of Metaphase Chromosomes by Treatment With Hypotonic KCL Stain Technology 40(6): 333—338
- Capanna, Ernesto 1980 Chromosomal Rearrangement and Speciation in Progress in *Mus Musculus* Folia Zoologica 28(1):43—57
- Gustavsson, I. and C. O. Sundt 1969 Three Polymorphic Chromosome Systems of Centric Fusion Type in a Population of Manchurian Sika Deer (*Cervus nippon hortulorum* Swinhoe) *Chromosoma* (Berl.) 28: 245—254
- Gustavsson, I. and C. O. Sundt 1968 Karyotypes in Five Species of Deer (*Alces alces* L., *Capreolus capreolus* L., *Cervus Elaphus* L., *Cervus nippon nippon* Temm. and *Dama dama* L.) *Hereditas* (Lond.) 60:238—248
- Hsu, T.C. 1974 Axis axis (Axis deer; chital) An Atlas of Mammalian Chromosomes Vol. 8 Folio 390

THE C AND G-BANDING KARYOTYPE OF EAST-NORTH SIKA DEER *CERVUS NIPPON HORTULORUM*

Yu Xiuzhang Hu Zhendong

(Institute of Special Products, Chinese Academy of Agricultural Science)

The C and G-banding karyotypes of the *Cervus nippon hortulorum* are studied. The diploid number of this deer is 66, which can be divided into 2 groups. Group 1 has two pairs of chromosomes which are called metacentric chromosome. Group 2 consists of 32 pairs of acrocentric chromosomes. The sex chromosomes are X Y in male and X X in female. The X chromosome is the largest of the acrocentric chromosome, the Y chromosome is the smallest of the submetacentric chromosome.

Both C-banding pattern and G-banding pattern of *C. n. hortulorum* are analyzed. C-banding pattern shows that heterochromatin is found in all chromosomes, but the amount of the heterochromatin is different from those of acrocentrics, metacentrics and submetacentric chromosomes. G-banding pattern shows that homologous chromosomes have their own special banding patterns, so that each of them is easily recognizable. The G-banding pattern is described.

Yu Xinhong et al. C and G-Banding Karyotype of East-North sika Deer *Cervus Nippon Hortulorum*

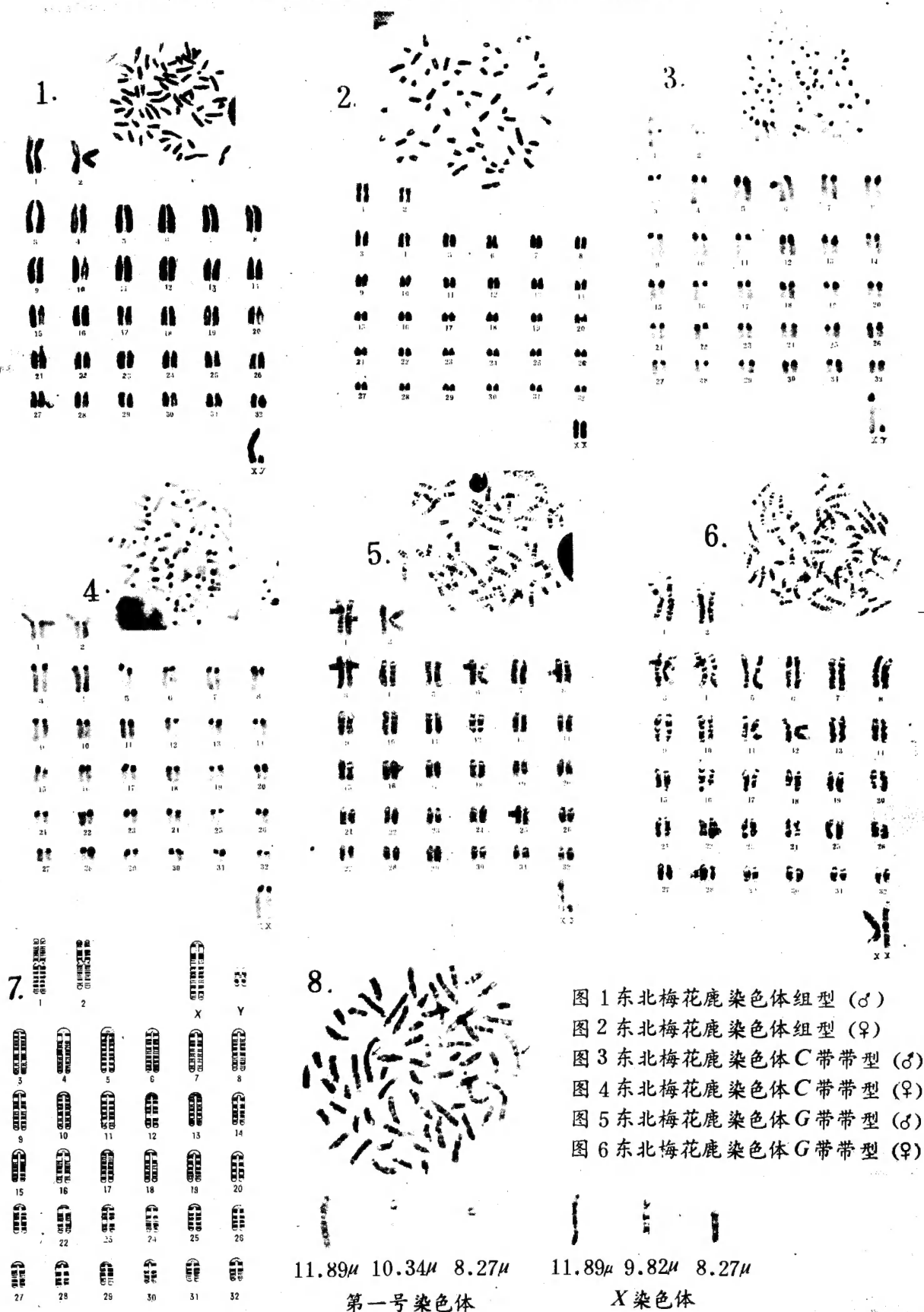


图1 东北梅花鹿染色体组型(♂)

图2 东北梅花鹿染色体组型(♀)

图3 东北梅花鹿染色体C带带型(♂)

图4 东北梅花鹿染色体C带带型(♀)

图5 东北梅花鹿染色体G带带型(♂)

图6 东北梅花鹿染色体G带带型(♀)

11.89 μ 10.34 μ 8.27 μ

第一号染色体

11.89 μ 9.82 μ 8.27 μ

X染色体